

Fluorescent properties of microscopically sample plants determined by synchronized light pulses and charge coupled device

Publication number: DE19857792

Publication date: 2000-07-20

Inventor: SCHREIBER ULRICH (DE); GADEMANN ROLF (DE)

Applicant: SCHREIBER ULRICH (DE)

Classification:

- international: G01N21/64; G01N21/64; (IPC1-7): G01N33/18; G01N21/64; G01N33/483

- european: G01N21/64

Application number: DE19981057792 19981215

Priority number(s): DE19981057792 19981215

Report a data error here

Abstract of DE19857792

A measuring system to determine the relative chlorophyllic fluorescence yield of a specimen plant, uses measured light pulses to stimulate periodic fluorescent emissions. The system has a photo-detector to register the fluorescent signal, and a fluorescent signal amplifier synchronized with the measured light pulses. The system especially has a switch-synchronized higher-intensity light source, which when connected increases the frequency of the measured light pulses and reduces the frequency on disconnection. The high-intensity light source is identical with the light source triggering periodic fluorescent (1) stimulation. The measured light pulses are of uniform intensity and the total light energy directed at the sample (2) is varied by a change in pulse frequency.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 198 57 792 A 1**

⑤ Int. Cl. 7:
G 01 N 21/64
G 01 N 33/483
// G 01 N 33/18

⑳ Aktenzeichen: 198 57 792.3
㉔ Anmeldetag: 15. 12. 1998
㉕ Offenlegungstag: 20. 7. 2000

DE 198 57 792 A 1

⑦① Anmelder:
Schreiber, Ulrich, Dr., 97082 Würzburg, DE

⑦② Erfinder:
Schreiber, Ulrich, Dr., 97082 Würzburg, DE;
Gademann, Rolf, 97080 Würzburg, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Der Inhalt dieser Schrift weicht von den am Anmeldetag eingereichten Unterlagen ab

⑤④ **Ultraempfindliches Chlorophyllfluorometer**

⑤⑦ Gegenstand der Patentschrift sind Meßsysteme zur Bestimmung der relativen Chlorophyllfluoreszenzausbeute und Photosyntheseaktivität einer pflanzlichen Probe unter Verwendung von Meßlichtpulsen zur periodischen Fluoreszenzanregung und einer zweiten Lichtquelle zum Treiben sowie zur Absättigung der Photosynthese. Es werden Maßnahmen beschrieben, die die Verwendung eines Photomultipliers und damit eine extrem hohe Meßempfindlichkeit ermöglichen. Die abgeleiteten Meßsysteme ermöglichen die Erfassung der Photosyntheseaktivität mikroskopisch kleiner pflanzlicher Proben oder sehr verdünnter Suspensionen. Ähnliche Maßnahmen gelten für CCD-Elemente als Photodetektoren. Daraus abgeleitete Meßsysteme erlauben die Registrierung von Bildern der Fluoreszenzausbeute und der photosynthetischen Aktivität.

DE 198 57 792 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Meßsystem nach dem Oberbegriff der nebengeordneten Ansprüche 1 bzw. 2.

Ein derartiges Meßsystem ist aus der DE-35 18 527 A1 bekannt. Bei diesem, den derzeitigen Stand der Meßtechnik charakterisierenden System treten bei der Belichtung mit Starklicht zum Treiben der Photosynthese in pflanzlichen Proben, sowie bei der Anwendung von sättigenden Lichtpulsen, die im Zusammenhang mit der sogenannten "Chlorophyllfluoreszenz-Quenchanalyse" zur kurzfristigen Unterdrückung der Ausbeute der photosynthetischen Energieumwandlung appliziert werden, sehr unterschiedliche Signalamplituden auf. Diese Eigenschaft wirkt sich solange nicht nachteilig aus, wie als Photodetektor eine Photodiode verwendet wird, bei welcher die Signalamplitude über mehrere Zehnerpotenzen proportional zur Lichtintensität ist, ohne dass die Rauschamplitude bei hohen Intensitäten wesentlich zunimmt. Weiterhin kann durch Standardtechniken (wie z. B. AC-Kopplung) das Pulssignal am Ausgang einer einzelnen Photodiode leicht von einem potentiell um mehrere Zehnerpotenzen höheren nichtmodulierten Hintergrundsignal getrennt werden. In der Praxis treten jedoch Probleme auf, wenn statt einer Photodiode ein Photomultiplier oder eine CCD-Kamera als Photodetektor eingesetzt wird. Die Anwendung eines Photomultipliers ist erstrebenswert zur Untersuchung von Proben mit sehr geringem Chlorophyllgehalt (z. B. Wasserproben aus Seen, Flüssen und Meeren) und zur Untersuchung sehr kleiner Probenflächen (z. B. bei der Fluoreszenzmikroskopie oder bei Mikrofiber-Untersuchungen).

Mit einer CCD-Kamera oder einer CCD-Zeilenkamera lassen sich über Fluoreszenzbildanalyse örtliche Heterogenitäten der Photosyntheseleistung (z. B. in einem Blatt) erfassen, was vor allem in der Phytopathologie von großer praktischer Bedeutung ist. Bei Verwendung eines Photomultipliers ergeben sich grundsätzliche Probleme aus der Tatsache, dass, anders als bei einer Photodiode, die Rauschamplitude mit der Signalamplitude ansteigt. So wird vor allem die Bestimmung der maximalen Fluoreszenzausbeute mit Hilfe eines sättigenden Lichtpulses, deren Wert für die Chlorophyllfluoreszenz-Quenchanalyse von zentraler Bedeutung ist, durch starkes Rauschen erheblich erschwert. Bei Verwendung eines CCD-Detektors ergibt sich ein Problem bezüglich der digitalen Auflösung, wenn das Meßsignal um Zehnerpotenzen variiert. Dieses Problem läßt sich selbst durch sehr kostspielige A/D-Wandler nicht beheben. Es kann somit festgestellt werden, dass die den derzeitigen Stand der Technik charakterisierenden Meßeinrichtungen in zwei sehr wichtigen praktischen Anwendungen grundlegend limitiert sind.

Der vorliegenden Erfindung hegt daher die Aufgabe zugrunde, Meßsysteme zu schaffen, welche eine selektive Erfassung der Chlorophyllfluoreszenz-Ausbeute im pulsmodulierten Meßlicht sowie eine zuverlässige "Chlorophyllfluoreszenz-Quenchanalyse" mit Hilfe sättigender Lichtpulse auch dann ermöglichen, wenn zur Erhöhung der Meßempfindlichkeit ein Photomultiplier oder zur Fluoreszenzbildanalyse ein CCD-Element eingesetzt wird.

Diese Aufgabe wird bei einem Meßsystem nach den Merkmalen im Oberbegriff der nebengeordneten Ansprüche 1 bzw. 2 gelöst mit deren Merkmalen im kennzeichnenden Teil.

Bei Verwendung derselben Lichtquelle zur Erzeugung sowohl der Meßlichtpulse, als auch des photosynthetisch wirksamen Starklichts und der sättigenden Lichtpulse, bei ausschließlicher Variation der Frequenz der Meßlichtpulse (d. h. konstanter Intensität der einzelnen Meßlichtpulse) ge-

maß Anspruch 1 sind die potentiellen Änderungen der Fluoreszenzintensität relativ klein und ausschließlich auf die lichtinduzierten Änderungen der Fluoreszenzausbeute der pflanzlichen Probe zurückzuführen, deren Messung angestrebt wird. Im Extremfall tritt beim Übergang vom schwachen Meßlicht (Quasi-Dunkelzustand) zum sättigenden Licht eine Erhöhung der Fluoreszenzausbeute um einen Faktor 5 auf, wobei das Signal/Rauschverhältnis des Photomultipliers nur geringfügig erniedrigt wird und bei Verwendung eines CCD-Detektors eine gute digitale Auflösung gewährleistet ist. Das Prinzip der Meßanordnung nach Anspruch 1 ist in Abb. 1a dargestellt. Als lichtemittierendes Mittel (1) fungiert vorzugsweise eine lichtemittierende Diode (LED), welche auf die pflanzliche Probe (2) gerichtet ist, deren Fluoreszenzemission mit Hilfe des Photodetektors (3) gemessen wird. Dem Stand der Technik entsprechend dient eine Steuer- und Auswerteelektronik zur synchronen Ansteuerung des LED-Treibers und des selektiven Vorverstärkers des Signals des Photodetektors (3).

Alternativ kann das gleiche Ziel gemäß Anspruch 2 auch dadurch erreicht werden, dass das Starklicht oder die sättigenden Lichtpulse durch eine zweite Puls-Lichtquelle erzeugt werden, die so angesteuert wird, dass eine Überlappung mit den Meßlichtpulsen vermieden wird. Das zwischen den Meßlichtpulsen eingestrahlte Licht kann den Zustand der pflanzlichen Probe und damit die Fluoreszenzausbeute verändern, ohne zum Zeitpunkt der mit den Meßlichtpulsen synchronisierten, selektiven Signalverstärkung bzw. Signalerfassung wirksam zu sein. Die Pulsdauer dieses zusätzlich eingestrahlichten Lichts muß um einige µsec kürzer als das Zeitintervall zwischen zwei aufeinander folgenden Meßlichtpulsen sein, um die Messung eines Referenzsignals im Aus-Zustand der LED-Lichtquelle vor jedem Meßlichtpuls zu ermöglichen. Bei Verwendung eines CCD-Detektors müssen die Ladungsintegrations-Perioden mit den Meßlichtpuls-Perioden synchronisiert sein. Das Prinzip der Meßanordnung nach Anspruch 2 ist in Abb. 1b dargestellt. Als lichtemittierendes Mittel (1) für Meßlichtpulse fungiert wie beim Anspruch 1 vorzugsweise eine lichtemittierende Diode (LED), welche auf die pflanzliche Probe (2) gerichtet ist, deren Fluoreszenzemission mit Hilfe des Photodetektors (3) gemessen wird. Zusätzlich ist ein zweites lichtemittierendes Mittel (4) zur Erzeugung von Starklicht und Sättigungspulsen auf die pflanzliche Probe gerichtet, wozu wiederum vorzugsweise eine LED dient. Dem Stand der Technik entsprechend dient eine Steuer- und Auswerteelektronik zur Ansteuerung der beiden LED-Treiber, wobei der selektive Vorverstärker des vom Photodetektor (3) gemessenen Fluoreszenzsignals mit dem LED-Treiber der Meßlichtpulse synchronisiert ist.

Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den Unteransprüchen 3-19 angeführt.

Gemäß den Ansprüchen 3 bis 6 bieten sich LEDs oder Laserdioden als geeignete Lichtquellen mit schnellen Ein-Ausschaltflanken und einer breiten Auswahl verfügbarer Meßlichtwellenlängen sowohl für das Meßlicht als auch für das Stark- und Sättigungspulslicht an. Die LEDs können entweder einzeln oder als Arrays eingesetzt werden. Einzelne LEDs geben selbst zur Sättigung der Photosynthese ausreichende Intensitäten, wenn sie über geeignete Linsensysteme auf die zu untersuchenden pflanzlichen Proben fokussiert sind. LED-Arrays sind dann erforderlich, wenn größere Probenvolumina oder Probenflächen untersucht werden. Diese Meßanordnung ist z. B. erforderlich zur Chlorophyllfluoreszenz-Quenchanalyse bei Proben natürlicher Oberflächengewässer, in denen das mikroskopisch kleine, photosynthetisch aktive Phytoplankton über relativ große Wasservolumina verteilt ist, so dass durch eine einzelne LED die zur

Lichtsättigung der photosynthetischen Energieumwandlung notwendige Intensität nicht aufgebracht werden kann. Aus dem gleichen Grunde ist die Verwendung eines LED-Arrays erforderlich zur Messung von zweidimensionalen Bildern der Chlorophyllfluoreszenz-Emission von größerflächigen pflanzlichen Objekten, wie z. B. Blättern, mit Hilfe einer Kamera mit CCD-Detektor.

Die Verwendung eines Photomultipliers als Photodetektor gemäß Anspruch 7 bringt den Vorteil einer sehr effektiven und rauscharmen Fluoreszenzdetektion und Signalverstärkung.

Die Verwendung eines CCD-Detektors als Photodetektor gemäß den Ansprüchen 8 und 9 ist vor allem dann vorteilhaft, wenn die zweidimensionale Verteilung der Fluoreszenzausbeute in der pflanzlichen Probe von Interesse ist. So können Video-Kameras, in denen CCD-Detektoren integriert sind, zur Registrierung von Fluoreszenzbildern eingesetzt werden, aus denen sich Bilder der photosynthetischen Aktivität ableiten lassen.

Bei Verwendung eines Fluoreszenzmikroskops mit Auflicht-Fluoreszenzanregung gemäß den Ansprüchen 11-15 (Abb. 2a) wird das Licht einer einzelnen LED (1) durch das Objektiv des Mikroskops mit hoher Effizienz auf das Untersuchungsobjekt (2) fokussiert, so dass lokal am Objekt eine sehr hohe Meßlichtintensität vorliegt, was sowohl für die Amplitude des Meßsignals als auch für die Stärke des Sättigungspulses vorteilhaft ist. Durch die Anordnung des Photomultipliers (3) am Kamera-Adaptertubus des Fluoreszenzmikroskops gemäß Anspruch 12 ist eine optimale Erfassung des Fluoreszenzsignals gewährleistet. Bei Verwendung eines CCD-Detektors am Kamera-Adaptertubus des Fluoreszenzmikroskops gemäß Anspruch 13 wird das vergrößerte Bild des fluoreszierenden pflanzlichen Objektes mit zellulärer und subzellulärer räumlicher Auflösung erfaßt.

Durch die Anordnung der zweiten Lichtquelle (4) unterhalb der zu untersuchenden Probe (2) gemäß Anspruch 14 und Fokussierung des Lichtstrahls mit Hilfe eines Linsensystems ergibt sich eine hohe lokale Lichtintensität in der Objektebene, welche bei transparenten Objekten, wie z. B. einzelnen Algenzellen, bei der Erzeugung von Sättigungspulsen von Vorteil ist. (Abb. 2a)

Dadurch, dass gemäß Anspruch 15 das fokussierte Licht einer zweiten Lichtquelle (4) über eine Lichtleitfaser auf die Probe gerichtet wird, können im mikroskopisch kleinen Bildfeld hohe lokale Lichtintensitäten erreicht werden. Dabei kann der Winkel zwischen dem Ausgangsstrahl der Lichtleitfaser und dem Objektivengang so gewählt werden, dass kein direktes Licht durch das Objektiv zum Photodetektor (3) gelangt. Diese Anordnung ist besonders bei Einstrahlung von fernrotem Licht vorteilhaft, da dieses ebenso wie die Chlorophyllfluoreszenz ungehindert zum Photodetektor vordringen kann.

Eine einfache Meßeinrichtung gemäß Anspruch 16 läßt sich dadurch realisieren, dass das Anregungslicht einer LED in das eine Ende eines Lichtleiters eingekoppelt wird, an dessen anderem Ende sich die Probe befindet, und dass das Fluoreszenzlicht am gleichen Ende über ein dichroitische Filter, welches das LED-Licht ungehindert passieren läßt, im Winkel von 45° auf den Detektor umgelenkt wird. (Abb. 2b)

Wird gemäß Anspruch 17 das Licht einer einzelnen LED über ein geeignetes Linsensystem in den einen Arm einer Y-förmigen, dünnen Lichtleiteranordnung eingekoppelt und der andere Arm mit einem Photomultiplier verbunden, so lassen sich die oben beschriebenen Messungen auch an Blättern oder Sedimenten durchführen (Abb. 3a). Auf diese Weise läßt sich die Verteilung der Photosyntheseaktivität in Abhängigkeit vom Abstand zur Oberfläche bestimmen,

wenn das freie Ende des Lichtleiters in das Substrat eingeführt wird. Die Fasern können dazu auf wenige Mikrometer Durchmesser ausgezogen werden.

Zur Untersuchung von Wasserproben können gemäß Anspruch 18 eine oder mehrere LEDs auch direkt auf eine Küvette ausgerichtet werden (Abb. 3b). Ein Photomultiplier erlaubt dann die Messung der Fluoreszenzausbeute und der Photosyntheseaktivität bei extrem niedrigen Chlorophyllgehalten. Nach Kalibrierung lassen sich so die absoluten Chlorophyllgehalte von Wasserproben bestimmen. Eine besondere Anwendung sind Toxizitätstest, bei denen die Wirkung von potentiell toxischen Wasserproben auf Standardsuspensionen mit niedrigem Chlorophyllgehalt und bekannter Aktivität untersucht wird.

Meßsysteme nach den beschriebenen Ansprüchen können sowohl für den ortsgebundenen Laborbetrieb, als auch portabel für den Feldeinsatz unter rauen Betriebsbedingungen, z. B. unter Wasser, ausgeführt sein. Auch automatisch arbeitende Meßstationen sind möglich.

Patentansprüche

1. Meßsystem zur Bestimmung der relativen Chlorophyllfluoreszenz-Ausbeute einer zu untersuchenden pflanzlichen Probe unter Verwendung von Meßlichtpulsen eines lichtemittierenden Mittels zur periodischen Fluoreszenzanregung mit

- a) einem Photodetektor zur Erfassung des Fluoreszenzsignals,
- b) einem mit dem Takt der Meßlichtpulse synchronisierten, selektiven Fluoreszenzsignal-Verstärker, und
- c) einer Lichtquelle hoher Strahlungsintensität mit Mitteln zu deren Betrieb und Ein- und Ausschalten, wobei durch Synchronisierungs-Einrichtungen sichergestellt ist, daß beim Einschalten die Frequenz der Meßlichtpulse erhöht und beim Ausschalten wieder erniedrigt wird,

dadurch gekennzeichnet, daß

- d) die Lichtquelle hoher Strahlungsintensität mit dem lichtemittierenden Mittel zur periodischen Fluoreszenzanregung (1) identisch ist, und
- e) die im zeitlichen Mittel auf die pflanzliche Probe (2) einwirkende Lichtintensität bei gleichbleibender Intensität der einzelnen Meßlichtpulse durch deren Frequenz variiert wird.

2. Meßsystem zur Bestimmung der relativen Chlorophyllfluoreszenz-Ausbeute einer zu untersuchenden pflanzlichen Probe unter Verwendung von Meßlichtpulsen eines lichtemittierenden Mittels zur periodischen Fluoreszenzanregung mit

- a) einem Photodetektor zur Erfassung des Fluoreszenzsignals,
- b) einem mit dem Takt der Meßlichtpulse synchronisierten, selektiven Fluoreszenzsignal-Verstärker, und
- c) einer Lichtquelle hoher Strahlungsintensität mit Mitteln zu deren Betrieb und

Ein- und Ausschalten, wobei durch Synchronisierungseinrichtungen sichergestellt ist, daß beim Einschalten die Frequenz der Meßlichtpulse erhöht und beim Ausschalten wieder erniedrigt wird, dadurch gekennzeichnet, daß

- d) als Lichtquelle hoher Strahlungsintensität ein zweites lichtemittierendes Mittel zur periodischen Fluoreszenzanregung (4) verwendet wird, und
- e) das erste lichtemittierende Mittel (1) immer dann ausgeschaltet ist, wenn das zweite lichtemittierende

- tierende Mittel (4) eingeschaltet ist, und
f) die Einschaltzeiten des zweiten lichtemittierenden Mittels (4) kürzer sind als die Ausschaltzeiten des ersten lichtemittierenden Mittels (1).
3. Meßsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als lichtemittierendes Mittel zur periodischen Fluoreszenzanregung eine LED oder eine Laserdioden verwendet wird.
 4. Meßsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als lichtemittierendes Mittel zur periodischen Fluoreszenzanregung eine Gruppe von synchron angesteuerten LEDs (LED-Array) verwendet wird, welche alle auf die Probe (2) ausgerichtet sind.
 5. Meßsystem nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß für beide lichtemittierende Mittel LEDs oder Laserdioden verwendet werden, welche asynchron angesteuert werden und auf die Probe (2) ausgerichtet sind.
 6. Meßsystem nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß für beide lichtemittierende Mittel Gruppen von LEDs (LED-Arrays) verwendet werden, welche asynchron angesteuert werden und beide auf die Probe (2) ausgerichtet sind.
 7. Meßsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Photodetektor (3) ein Photomultiplier verwendet wird.
 8. Meßsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Photodetektor (3) ein lineares CCD-Element verwendet wird.
 9. Meßsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Photodetektor (3) ein abbildendes CCD-Element verwendet wird.
 10. Meßsystem nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß das CCD-Element in Verbindung mit einer Videokamera ein zweidimensionales Bild der Verteilung der Fluoreszenzausbeute der pflanzlichen Probe (2) liefert.
 11. Meßsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß das lichtemittierende Mittel zur periodischen Fluoreszenzanregung (1) als Anregungslichtquelle in einem Fluoreszenzmikroskop mit Aufsicht-Fluoreszenzanregung dient (Abb. 2a).
 12. Meßsystem nach Anspruch 11 dadurch gekennzeichnet, daß der Photodetektor (3) an dem Kamera-Adaptertubus eines Fluoreszenzmikroskops mit Aufsicht-Fluoreszenzanregung angebracht ist (Abb. 2a).
 13. Meßsystem nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß das CCD-Element in Verbindung mit einer Videokamera an dem Kamera-Adaptertubus eines Fluoreszenzmikroskops mit Aufsicht-Fluoreszenzanregung angebracht ist und ein zweidimensionales, mikroskopisch vergrößertes Bild der Verteilung der Fluoreszenzausbeute der pflanzlichen Probe (2) liefert (Abb. 2a).
 14. Meßsystem nach einem der Ansprüche 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, daß das zweite lichtemittierende Mittel (4) in der verlängerten optischen Achse des Fluoreszenzmikroskops unterhalb der auf einem Objektträger befindlichen pflanzlichen Probe (2) angebracht ist und ihr Licht über ein Linsensystem auf die Probe fokussiert wird (Abb. 2a).
 15. Meßsystem nach einem der Ansprüche 12 oder 13 dadurch gekennzeichnet, daß das Licht des zweiten lichtemittierenden Mittels (4) über ein Linsensystem auf einen Lichtleiter fokussiert ist, dessen anderes Ende auf die Probe (2) gerichtet ist.
 16. Meßsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 9 dadurch gekennzeichnet, daß das lichtemittierende Mittel

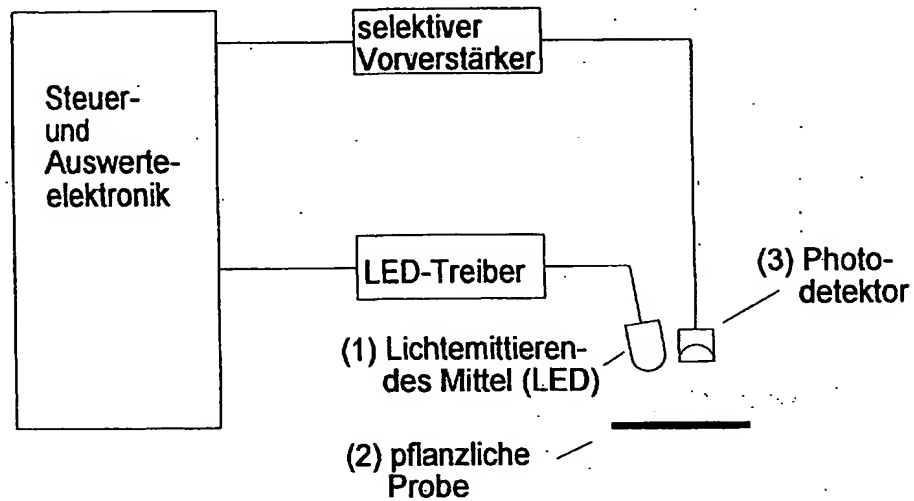
(1) und ein Photodetektor (3) über eine Strahlenteiler-Optik (5) auf dasselbe Ende eines Lichtleiters (6) gerichtet sind, dessen anderes Ende auf die Probe (2) zeigt (Abb. 2b).

17. Meßsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 9 dadurch gekennzeichnet, daß das lichtemittierende Mittel (1) und ein Photodetektor (3) auf verschiedene Enden eines mehrarmigen Lichtleitersystems (6) gerichtet sind, dessen freies Ende auf die Probe (2) zeigt oder in diese eindringt (Abb. 3a).

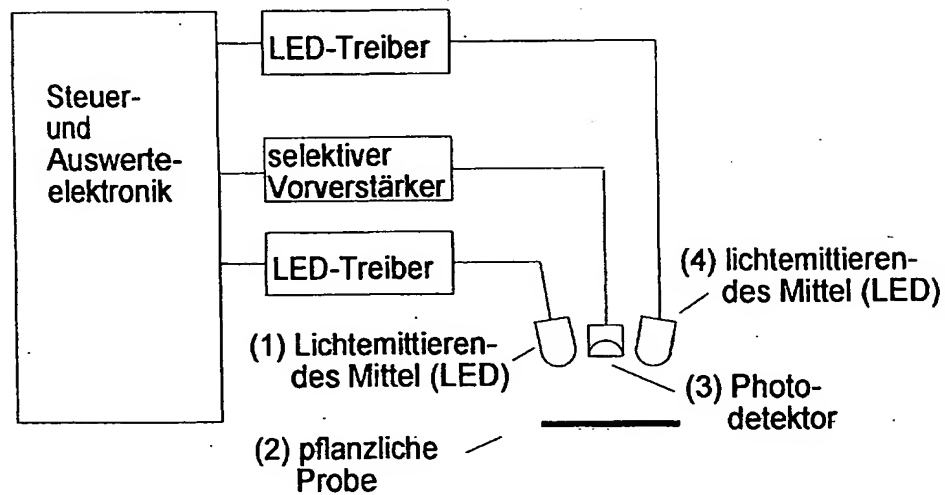
18. Meßsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 9 dadurch gekennzeichnet, daß das lichtemittierende Mittel zur periodischen Fluoreszenzanregung (1), das lichtemittierende Mittel (4) und ein Photodetektor (3) direkt auf ein Probenröhrchen (z. B. Reagenzglas oder Küvette) gerichtet sind, in dem sich die Probe (2) in Lösung bzw. suspendierter Form befindet (Abb. 3b).

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

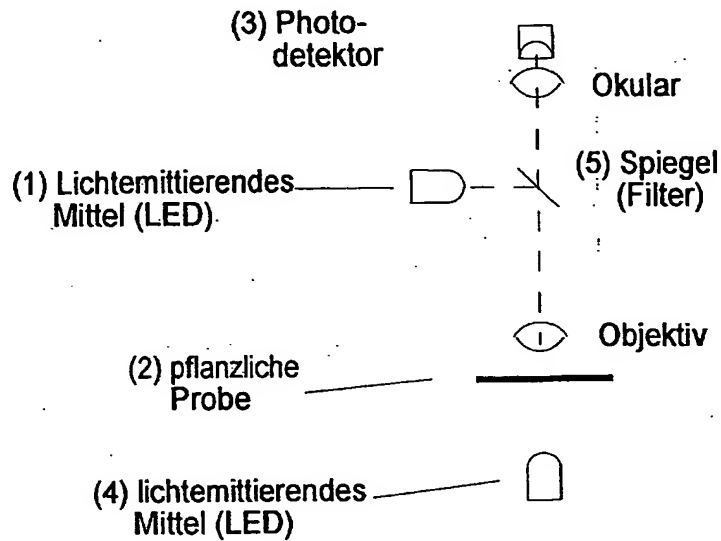


1a) Prinzip der Meßanordnung nach Anspruch 1

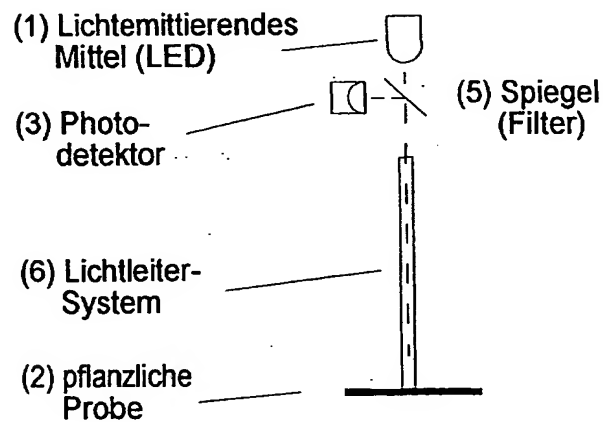


1b) Prinzip der Meßanordnung nach Anspruch 2

Abbildung 1a) und 1b)



**Abbildung 2a) Prinzip der Meßanordnung nach Anspruch 11 bis 15:
Aufbau in einem Epifluoreszenz-Mikroskop**



**Abbildung 2b) Prinzip der Meßanordnung nach Anspruch 16:
Verwendung einer einzelnen Lichtleiterfaser.**

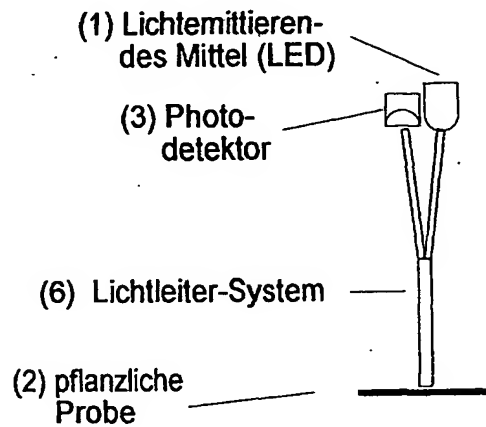


Abbildung 3a) Prinzip der Meßanordnung nach Anspruch 17:
Verwendung von mehrarmigen Lichtleitern

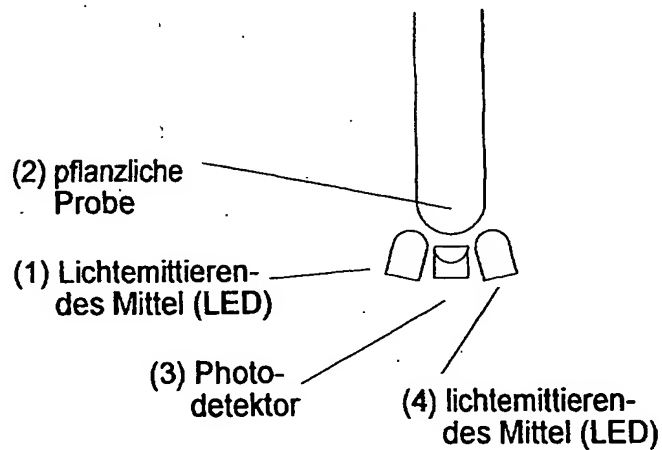


Abbildung 3b) Prinzip der Meßanordnung nach Anspruch 18:
Anordnung für gelöste Proben